

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
LENGKUAS (*Alpinia galanga*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
TERHADAP SEL MCF-7**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan Farmasi
Fakultas Farmasi**

Oleh:

DESTRIYANA PRADITA MEGA

K 100 130 144

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL
LENGKUAS (*Alpinia galanga*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*)
TERHADAP SEL MCF-7**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

DESTRIYANA PRADITA MEGA

K 100 130 144

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Maryati. Ph.D., Apt.

NIK.871

HALAMAN PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL LENGKUAS (*Alpinia galanga*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) TERHADAP SEL MCF-7

OLEH

DESTRIYANA PRADITA MEGA

K 100 130 144

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Jum'at, 28 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt.
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dr. Haryoto, M.Sc.
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Maryati, Ph.D., Apt.
(Anggota II Dewan Penguji)

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,

Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

NIK. 956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 28 Desember 2018

Penulis



DESTRIYANA PRADITA MEGA

K 100 130 144

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL LENGKUAS (*Alpinia galanga*) DAN DAUN PEPAYA (*Carica papaya L.*) TERHADAP SEL MCF-7

Abstrak

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker paling banyak pada wanita. Tingginya angka kejadian kanker payudara mendorong untuk pengembangan obat antikanker yang lebih selektif dalam melawan sel kanker tanpa merusak jaringan-jaringan normal. Salah satu alternatif dalam pengobatan kanker dengan mencari sumber bahan alam yang dapat dikembangkan, seperti lengkuas (*Alpinia galanga*) dan pepaya (*Carica papaya*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap sel MCF-7. Daun pepaya dan lengkuas diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT assay. Seri Konsentrasi ekstrak tunggal dan kombinasi yang diujikan adalah 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 µg/mL. Hasil uji sitotoksik terhadap sel MCF-7 menunjukkan ekstrak daun pepaya tidak memiliki aktivitas, sedangkan untuk ekstrak lengkuas memiliki nilai IC₅₀ sebesar 99,842 µg/mL dan kombinasi ekstrak daun pepaya-lengkuas 83,443 µg/mL. Kombinasi ekstrak tidak menunjukkan peningkatan aktivitas yang signifikan terhadap sel MCF-7.

Kata Kunci: *Carica papaya L.*, *Alpinia galanga*, sitotoksik, MCF-7

Abstract

Breast cancer is a kind of cancer where mostly happen in woman. The high number of breast cancer cases forces for developing anticancer medicine which more selective in fighting the cancer cell without damaging the normal tissues. An alternative way in treating cancer by seeking sources of natural products which can be developed such as galangal (*Alpinia galanga*) and papaya (*Carica papaya*). This reasearch aims to find the potential for the ethanol extract combination of galangal (*Alpinia galanga*) with papaya leaves (*Carica papaya L.*) against MCF-7 cell. Papaya leaves and galangal were extracted with meceration method using ethanol 96%. Cytotoxic test had been done using MTT assay method. Concentration Series of individual extract and combination that being tested were 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 µg/mL. The result of cytotoxic test against MCF-7 showed that the extract of papaya leaves did not have much activities, meanwhile for the extract of galanga had index IC₅₀ score 99,842 µg/mL and the extract combination of papaya leaves-galanga 83,443 µg/mL. The combination of extract did not show significant improving activity against MCF-7.

Keywords: *Carica papaya L.*, *Alpinia galanga*, cytotoxic, MCF-7

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu jenis penyakit yang disebabkan karena sel berubah menjadi tidak normal, menjadi lebih agresif, dan mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali. Kanker payudara menjadi jenis kanker kedua yang mendominasi angka kejadian kanker yang paling banyak ditemukan pada wanita usia dewasa, pernah kawin, status pendidikan rendah, bertempat tinggal di kota, dan berpenghasilan miskin dengan angka 16% (Dewi, 2017). Pengobatan kanker yang terdapat

di Indonesia yakni bedah, radiasi, dan kemoterapi dinilai masih menimbulkan efek samping yang merugikan seperti immunosupresi, myelosupresi, gangguan gastrointestinal, anemia, dan kerontokan pada rambut (Chitwood *et al.*, 2013). Oleh karena itu perlu dicari obat antikanker yang lebih selektif dalam melawan sel kanker tanpa merusak jaringan-jaringan normal. Salah satu alternatif dalam pengobatan kanker yang perlu terus digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan ialah dengan memanfaatkan aset nasional berupa tanaman obat (Srisadono, 2008).

Lengkuas (*Alpinia galanga*) telah diteliti menjadi bahan alam yang berpotensi sebagai obat, salah satu nya yaitu anti kanker (Kaushik *et al.*, 2011). Senyawa 1'- Asetoksikavikol asetat yang terdapat pada lengkuas telah dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Chauhan *et al.*, 2014). Penelitian menunjukan senyawa 1'- Asetoksikavikol asetat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 15,8 µg/mL (Sari, 2017). Berdasarkan penelitian Suhendi *et al.*, 2017 lengkuas yang diperoleh dari pasar Legi Surakarta memiliki IC₅₀ terhadap sel MCF-7 sebesar 15,80 µg/mL.

Selain lengkuas, pepaya (*Carica papaya*) juga digunakan sebagai obat. Kandungan fitokimia pepaya adalah senyawa flavonoid yang merupakan antioksidan alami. Ekstrak daun pepaya dapat menghambat proliferasi sel kanker MCF-7, memacu apoptosis secara *in vitro*, meningkatkan ekspresi TLR-7, TLR-9 dan menurunkan ekspresi COX-2. Perlakuan kombinasi antara ekstrak daun pepaya dan doksorubisin lebih efektif dalam melawan kanker payudara secara *in vitro* dan *in vivo* (Nisa *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil penelitian Nisa *et al.*, (2017) disebutkan juga bahwa ekstrak daun pepaya berpotensi sebagai antioksidan dalam menghambat kanker payudara melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel, induksi apoptosis, meningkatkan aktivitas enzim SOD dan GPx, menurunkan inflamasi dan meningkatkan respon imun. Pada penelitian Amalia, (2016) juga membuktikan bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki IC₅₀ terhadap sel MCF-7 sebesar 9,73 µg/mL. Berdasarkan pemaparan tersebut diketahui bahwa daun pepaya berpotensi dalam meningkatkan efektifitas pengobatan kanker payudara sebagai antioksidan. Oleh karenanya, pada penelitian ini kami ingin meneliti efek kombinasi dari ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dan daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap sel MCF-7.

2. METODE

2.1 Alat

Lemari pengering, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Heidolph), *96-well plate* (Iwaki), *Cytotoxic Safety Cabinet* (ESCO), *incubator CO₂* (BINDER), *counter*, *Laminar Air Flow* (LAF) (IsocideTM), *Elisa reader* (Elx800 BioTech), *vortex* (Maxi Mix II), *hemasitometer* (Neubauer), *mikroskop* (Olympus CKX41).

2.2 Bahan

Lengkuas dan daun pepaya diperoleh dari Pasar Legi Surakarta, sel MCF-7 diperoleh dari koleksi Laboratorium Kultur Sel Mamalia Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Etanol 96% teknis (Merck), Media Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Dimetil sulfoksida (DMSO), reagen MTT (Invitrogen), tripsin-EDTA 0,25% (Sigma), *Phosphate buffred saline* (PBS), *Sodium dodecyl sulfate* (SDS).

2.3 Jalannya Penelitian

2.3.1 Ekstraksi

Daun pepaya dan lengkuas masing masing dibersihkan, dikeringkan menggunakan lemari pengering selama kurang lebih 2 hari untuk lengkuas dan 1 hari untuk daun pepaya kemudian dihaluskan. Simplisia kering daun pepaya ditimbang 142,2 gram dan lengkuas 137,6 gram, dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 10 bagian simplisia dituangi 75 bagian penyari (DepKes RI, 1995). Pelarut etanol 96% untuk daun pepaya ± 1.120 mL dan untuk lengkuas ± 1.032 mL, direndam selama 3 hari dan dibantu pengadukan pada suhu ruangan. Ekstrak cair dikentalkan menggunakan *rotary evaporator* (Heidolph) pada suhu 60°C dan dilanjutkan menggunakan *waterbath* (Heidolph) untuk memperoleh ekstrak kental.

2.3.2 Pembuatan larutan uji ekstrak tunggal

Ekstrak etanol lengkuas 10,1 mg dilarutkan dalam 100 μ L DMSO dan ekstrak etanol daun pepaya 10,4 mg dilarutkan dalam 200 μ L DMSO, masing-masing dilarutkan dengan bantuan vortex (Maxi Mix II) hingga homogen kemudian ditambahkan media DMEM ad 1 mL. Dibuat seri konsentrasi larutan uji 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 μ g/mL.

2.3.3 Pembuatan larutan uji kombinasi ekstrak etanol lengkuas dan daun pepaya

Hasil penimbangan ekstrak etanol lengkuas 10,2 mg dan ekstrak etanol daun pepaya 10 mg dicampur dan dilarutkan dalam 300 μ L DMSO dengan bantuan vortex (Maxi Mix II) hingga homogen

kemudian ditambahkan media DMEM *ad* 1 mL. Dibuat seri konsentrasi larutan uji 500, 250, 125, 62,5, dan 31,25 µg/mL.

2.3.4 Uji sitotoksitas dengan metode MTT

Suspensi sel MCF-7 yang sudah dipanen dan dihitung jumlah selnya dimasukan dalam 96-well plate dengan kepadatan 10^4 sebanyak 100 µL dan disisakan 3 sumuran kosong untuk kontrol media. Sel diinkubasi selama 3 hari agar sel *attach* kembali dan distribusinya merata. Dimasukkan seri konsentrasi larutan uji tunggal dan kombinasi yang sudah disiapkan ke dalam sumuran dengan tiga replikasi setiap konsentrasinya sebanyak 100 µL. Plate kembali diinkubasi selama 48 jam agar terlihat efek sitotoksiknya. Media dibuang kemudian ditambahkan reagen MTT yang sudah disiapkan 100 µL per sumuran, diinkubasi kembali selama 2 jam hingga terbentuk kristal formazan. Ditambahkan reagen stopper SDS 100 µL per sumuran kemudian plate dibungkus menggunakan alumunium foil dan diinkubasikan di tempat gelap pada suhu ruang selama semalam.

2.3.5 Analisis Data

Dari pembacaan ELISA reader didapat data absorbansi yang digunakan untuk menghitung persentase jumlah sel hidup menggunakan persamaan regresi linier dengan menghubungkan antara log konsentrasi dan persentase sel hidup sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukan angka 50 pada y yang hasilnya berupa antilog x. Berikut rumus perhitungan % sel hidup yang digunakan :

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100 \quad (1)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Berikut dalam tabel 1 menampilkan data berat sampel kering, berat ekstrak kental dan hasil rendemen ekstrak:

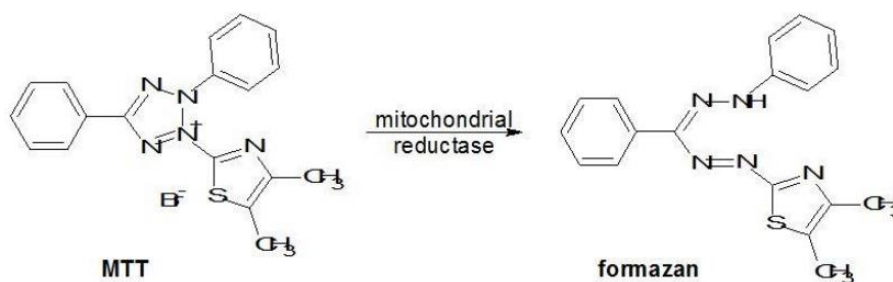
Tabel 1. Data hasil rendemen ekstrak etanol lengkuas dan daun pepaya

No.	Keterangan	Lengkuas	Daun Pepaya
1.	Berat Sampel (gram)	137,6	142,2
2.	Berat Ekstrak Kental (gram)	29,74	23,91
3.	Rendemen	21,61%	16,81%

3.2 Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan evaluasi terstandarisasi guna mengetahui apakah suatu material mengandung zat toksik secara biologis atau tidak. Syarat untuk sistem uji sitotoksitas diantaranya sistem pengujian harus dapat menghasilkan kurva dosis-respon yang reproduibel dengan variabilitas yang rendah, kriteria respon harus menunjukkan hubungan linier dengan jumlah sel serta informasi yang didapat dari kurva dosis-respon harus sesuai dengan uji pada *in vivo*. Uji sitotoksik pada penelitian ini menggunakan metode MTT *assay* yang merupakan metode kolorimetri (CCRC FF UGM, 2012).

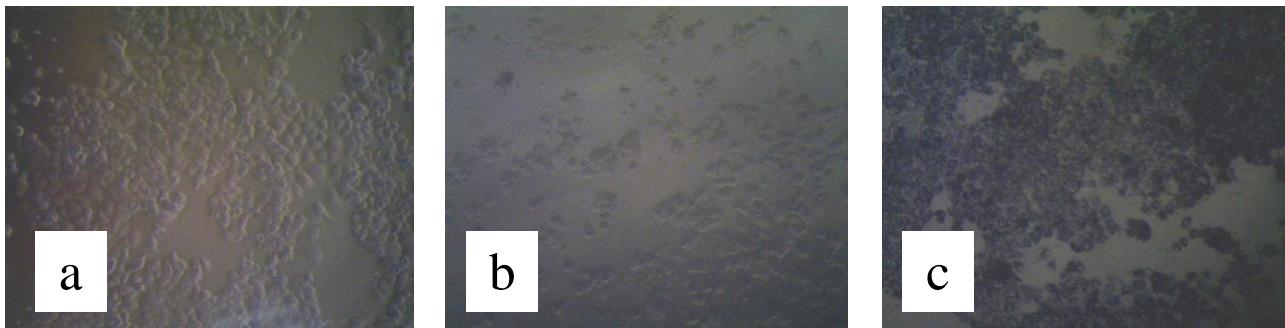
Prinsip dari metode MTT adalah pemecahan garam tetrazolium menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif pada sel hidup. Kristal formazan bersifat basa dan tidak larut sehingga perlu ditambahkan SDS 10% dalam HCl 0,01 N yang merupakan surfaktan agar membran sel dapat dirusak dan garam dapat larut, HCl berfungsi untuk menghentikan reaksi enzimatik dan merubah warna merah fenol dalam media sel menjadi kuning, sehingga proses pembacaan formazan tidak terganggu (Harahap *et al.*, 2007). Pembacaan absorbansi menggunakan *Enzim-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *reader* dengan panjang gelombang maksimum 552-554 nm, semakin tinggi intensitas warna ungu yang terbentuk maka semakin tinggi absorbansinya dan semakin banyak jumlah sel hidup (Swantara and Rita, 2015). Uji ini memiliki beberapa keuntungan yaitu cepat, mudah, ekonomis, serta akurat dan dapat dipercaya (*reliable*) dalam kuantifikasi jumlah sel (CCRC, 2012). Berikut adalah reaksi pembentukan kristal formazan oleh reagen MTT pada Gambar 1 (Berridge and Tan, 1993).



Gambar 1. Reduksi MTT menjadi fomazan

Pada penelitian ini digunakan pelarut DMSO dengan konsentrasi tertinggi 1,5% pada uji. Pelarut ini memiliki kemampuan melarutkan yang baik untuk ion anorganik maupun organik (Fessenden dan Fessenden, 1983). Purwaningsih, Widayanti, & Suciati (2014) melaporkan bahwa pelarut DMSO dengan konsentrasi 3% tidak berefek pada sel kanker.

Adanya perubahan morfologi pada sel MCF-7 sebelum dan setelah mengalami perlakuan dan setelah ditambahkan MTT terlihat pembentukan kristal formazan seperti yang terlihat pada Gambar 2. Sel mati ditandai dengan warna yang gelap, memiliki kepadatan rendah dan tidak beraturan, sedangkan sel yang masih hidup memiliki karakteristik lebih padat dan memiliki warna yang lebih terang (Djajanegara and Wahyudi, 2009).



Gambar 2. Morfologi sel sebelum diberi perlakuan (a), morfologi sel setelah ditambahkan kombinasi ekstrak etanol lengkuas-daun pepaya konsentrasi 250 µg/mL (b), morfologi sel setelah diberi reagen MTT (c)

Nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan nilai absorbansi yang didapatkan dari pembacaan ELISA reader. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menandakan aktivitas sitotoksik yang semakin baik. Berdasarkan National Cancer Institute (NCI) Guideline (2018) suatu senyawa dikategorikan aktif efek sitotoksiknya apabila memiliki nilai $IC_{50} < 20$ µg/mL, kategori *moderat* dengan nilai IC_{50} 20-100 µg/mL, kategori tidak aktif dengan nilai $IC_{50} \geq 100$ µg/mL. Menurut Balantyne *et al.*, (1999) senyawa dengan aktivitas sitotoksik potensial (nilai $IC_{50} < 100$ µg/mL) dapat berfungsi sebagai agen antikanker, sedangkan kelompok sitotoksitas moderat (nilai $IC_{50} > 100 - 1000$ µg/mL) dapat digunakan sebagai agen kemopreventif.

Pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki kandungan senyawa antikanker alkaloid dan senyawa fenolik (Nguyen *et al.*, 2016). Telah diteliti beberapa sel kanker yang dapat dihambat oleh ekstrak daun pepaya yaitu sel kanker perut (AGS), sel kanker pankreas (Capan-1), sel kanker kolon (DLD-1), sel kanker ovarium (Dov-13), sel kanker limfa (Karpas), sel kanker payudara (MCF-7), sel kanker neuroblastoma (T98G), sel kanker uterin (HeLa), sel kanker leukemia T-sel (CD26 negative) (Fauziya and Krishnamurty, 2013). Diketahui IC_{50} ekstrak daun pepaya terhadap squamous cell carcinoma sebesar 77,18 µg/mL (Nguyen *et al.*, 2016). Aktivitas antikanker daun pepaya telah diteliti sebelumnya terhadap sel HeLa didapatkan IC_{50} 40,868 µg/mL (Seran, 2012). Penelitian lain tentang daunnya adalah ekstrak daunnya mampu menghambat pertumbuhan kanker serviks, hati, dan

leukimia dengan cara menghambat proliferasi dari sel hemopoetik dan tumor solid (Otsuki *et al.*, 2010).

Nilai absorbansi yang didapat dari pembacaan ELISA reader digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier sehingga diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak tunggal daun pepaya, ekstrak tunggal lengkuas, dan kombinasi ekstrak daun pepaya-lengkuas. Pada uji sitotoksik ekstrak etanol daun pepaya terhadap sel MCF-7 terlihat bahwa peningkatan konsentrasi dapat menyebabkan penurunan persentase sel hidup namun nilai IC₅₀ tidak dapat ditentukan karena konsentrasi tertinggi ekstrak hanya dapat menghambat pertumbuhan sel kurang lebih sebesar 17 % (nilai hambat kurang dari 50%) sehingga ekstrak etanol 96% daun pepaya tidak memiliki aktivitas sitotoksik (Tabel 2). Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Amalia, (2016) bahwa ekstrak daun pepaya (*Carica Papaya L.*) memiliki IC₅₀ terhadap sel MCF-7 sebesar 9,73 µg/mL.

Tabel 2. Pengaruh ekstrak etanol daun pepaya terhadap sel MCF-7

Konsentrasi ekstrak etanol daun pepaya (µg/mL)	Rata-rata % sel hidup MCF-7	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ terhadap MCF-7 (µg/mL)	Kategori efek sitotoksik
500	82,259	$y = -18,9103x + 134,7873$ $R^2 = -0,9116$	—	Tidak ada efek sitotoksik
250	86,707			
125	101,899			
62,5	101,449			
31,25	103,348			

Hal yang sama terlihat pada pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol lengkuas terhadap sel MCF-7 bahwa peningkatan konsentrasi dapat menyebabkan penurunan persentase sel hidup, namun lengkuas memiliki efek sitotoksik yang kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 99,842 µg/mL. Jumlah sel hidup pada konsentrasi tertinggi (500 µg/mL) ekstrak etanol lengkuas sebesar 3,848% atau persentase penghambatannya sekitar 96,152% (Tabel 3). Penelitian ini sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Seperti pada penelitian Lee and Houghton, 2005 disebutkan nilai IC₅₀ senyawa 1'-Asetoksikavikol asetat yang terkandung pada lengkuas terhadap sel MCF-7 sebesar 23,9 µM. Penelitian lain menunjukkan ekstrak lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik dengan menghambat proliferasi sel pada fase G0-G1 dengan IC₅₀ 20 µM (Hasima *et al.*, 2010). Berdasarkan penelitian Suhendi *et al.*, (2017) lengkuas yang diperoleh dari pasar Legi Surakarta memiliki IC₅₀ terhadap sel MCF-7 sebesar 15,80 µg/mL. Pada penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa daun pepaya dan lengkuas memiliki efek sitotoksik terhadap sel MCF-7.

Tabel 3. Pengaruh ekstrak etanol lengkuas terhadap sel MCF-7

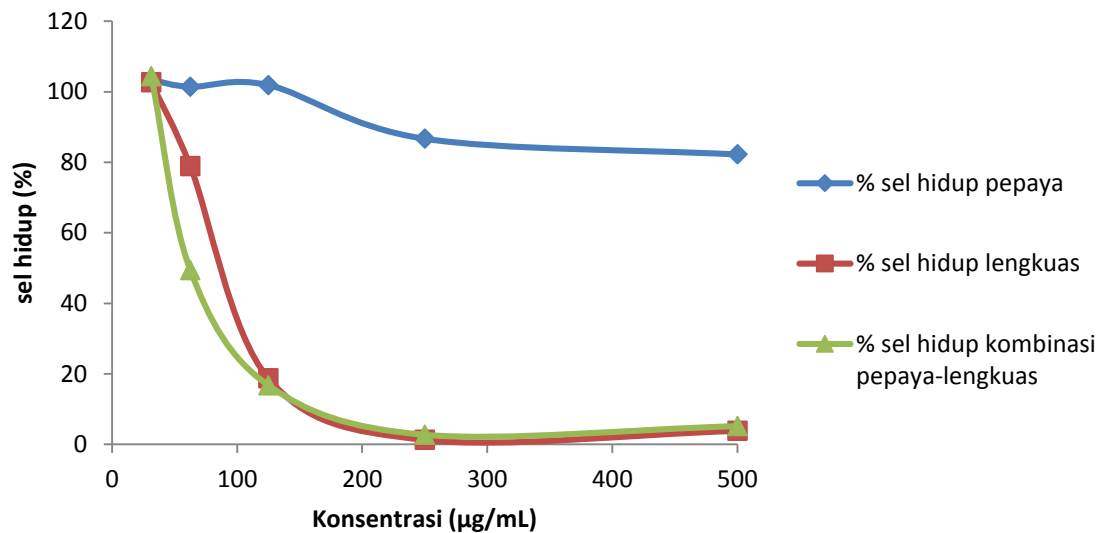
Konsentrasi ekstrak etanol lengkuas (µg/mL)	Rata-rata % sel hidup MCF-7	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ terhadap MCF-7 (µg/mL)	Kategori efek sitotoksik
500	3,848	$y = -91,4163x + 232,7697$ $R^2 = -0,9335$	99,842	<i>Moderat</i>
250	1,300			
125	18,691			
62,5	78,861			
31,25	102,649			

Kombinasi ekstrak daun pepaya-lengkuas memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 83,443 µg/mL, tetapi tidak menunjukkan kenaikan nilai IC₅₀ yang signifikan. Hal tersebut dapat disebabkan karena ekstrak tunggal daun pepaya yang tidak memiliki aktivitas sitotoksik sehingga hanya zat aktif dari lengkuas yang memiliki potensi sebagai antikanker. Jumlah sel hidup pada konsentrasi tertinggi (500 µg/mL) Kombinasi ekstrak daun pepaya-lengkuas sebesar 5,197% atau persentase penghambatannya sekitar 94,803% (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh kombinasi ekstrak etanol daun papaya-lengkuas terhadap sel MCF-7

Konsentrasi kombinasi ekstrak etanol daun pepaya-lengkuas (µg/mL)	Rata-rata % sel hidup MCF-7	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ terhadap MCF-7 (µg/mL)	Kategori efek sitotoksik
500	5,197	$y = -81,4206x + 206,4408$ $R^2 = -0,9081$	83,443	<i>Moderat</i>
250	2,749			
125	16,741			
62,5	49,425			
31,25	104,397			

Hubungan konsentrasi dan persen sel hidup dinyatakan dalam grafik (Gambar 4). Hasil menunjukkan *dose dependent* karena menunjukkan adanya penurunan persen sel hidup saat meningkatnya konsentrasi sampel. Kesimpulan hasil dari penelitian ini bahwa kombinasi ekstrak daun pepaya-lengkuas tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang signifikan dalam meningkatkan efek sitotoksik dari senyawa tunggal daun pepaya dan lengkuas.



Gambar 4. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pepaya, ekstrak etanol lengkuas, dan kombinasi ekstrak etanol daun pepaya-lengkuas terhadap sel MCF-7

Terdapat perbedaan hasil pada penelitian ini dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Faktor-faktor yang mungkin dapat mempengaruhi perbedaan hasil tersebut antara lain perbedaan pada penyari ekstraksi sehingga kurang optimalnya kandungan kimia yang berpotensi sebagai zat sitotoksik. Nguyen et al., (2016) menggunakan air sebagai pelarut dalam pembuatan ekstrak daun pepaya pada penelitian tersebut dengan nilai IC_{50} pada sel SCC25 sebesar 40,14 µg/mL dan pada sel HaCaT sebesar 34,24 µg/mL. Pada penelitian Seran, 2012 didapat nilai IC_{50} ekstrak etanol 80% daun pepaya pada sel kanker serviks sebesar 40,868 µg/mL pada pengukuran I dan 43,721 µg/mL pada pengukuran II.

Penelitian lainnya, Sukardiman *et al.*, (2006) melihat hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya .L*) adalah senyawa alkaloid. Adapun senyawa alkaloid golongan piperidina yang memiliki aktivitas antikanker dan memiliki mekanisme antikanker dengan menginduksi apoptosis adalah senyawa flavopiridol, yang merupakan senyawa hasil semisintesa dari alkaloid piperidina dengan senyawa flavonoid. Potensi aktivitas antikanker dari fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya .L*) jika dibandingkan dengan aktivitas ekstrak metanol yang telah dilakukan sebelumnya oleh Huda, 2001 terlihat adanya peningkatan aktivitas. Hal tersebut ditunjukkan dari harga LC_{50} , dimana ekstrak metanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antikanker terhadap sel mieloma mencit dengan nilai LC_{50} sebesar 336,17 µg/mL sedangkan fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya L*) memiliki aktivitas antikanker terhadap kultur sel mieloma dengan nilai LC_{50} sebesar 104,40 µg/mL. Dengan

demikian tampak bahwa dengan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang dimaksud maka harga LC₅₀ semakin kecil, yang berarti aktivitasnya semakin besar.

Faktor lainnya yaitu faktor yang dapat mempengaruhi kualitas tanaman, yaitu perbedaan varietas tanaman, perbedaan daerah penanaman tanaman sampel, proses panen, maupun waktu panen yang dapat mempengaruhi keragaman karakter morfologi daun dan rimpang maupun kualitas kandungan senyawa kimia (Bermawie *et al.*, 2012). Hasil penelitian Nisa *et al.*, 2017 menyebutkan bahwa pepaya grendel memiliki kadar flavonoid tertinggi di antara varian pepaya lain yaitu pepaya bangkok, pepaya emas, pepaya ungu, dan pepaya california.

4. PENUTUP

Kesimpulan dari penelitian ini kombinasi ekstrak etanol lengkuas (*Alpinia galanga*) dan daun pepaya (*Carica papaya* L.) tidak meningkatkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7. Saran dari kekurangan penelitian ini perlu dilakukan optimasi cairan penyari dari ekstrak daun pepaya dan ekstrak lengkuas agar kandungan senyawa yang didapat lebih optimal, perlu dilakukan identifikasi kandungan senyawa penanda (*chemical marker*), perlu dilakukan penelitian uji aktivitas sitotoksik lebih lanjut terhadap sel kanker lain maupun terhadap sel normal untuk mengetahui keamanan dari aktivitas sitotoksiknya, dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas sitotoksik dari bagian tanaman lainnya terhadap sel MCF-7.

PERSANTUNAN

Ucapan terimakasih kepada Rella Religia A. selaku laboran laboratorium kultur sel Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Zainal selaku laboran laboratorium Farmakologi & Farmasi Klinis Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, dan pihak lainnya yang telah membantu dalam pengerjaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia P.K., 2016, Uji AKtivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* L.), Kemangi (*Ocimum sanctum* L.), dan Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Sel MCF-7, *Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta*
- Bermawie N., Purwiyanti S., Melati and Meilawati N.L.W., 2012, Karakter Morfologi, Hasil, dan Mutu Enam Genotip Lengkuas pada Tiga Agroekologi, *Bul. Littro*, 23 (2), 125–135.
- Berridge M. V. and Tan A.S., 1993, Characterization of the Cellular Reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-siphenyltetrazolium bromide (MTT): Subcellular Localization, Substrate Dependence, and Involvement of Mitochondrial Electron Transport in MTT Reduction, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 303 (2), 474–482.
- CCRC FF UGM, 2012, Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT, *Cancer Chemoprevention*

Research Center, 1–7.

- Chauhan V.S., M. S. and Singh A., 2014, Phytochemical Investigation and Cytotoxic Activity of Methanolic Extract of *Alpinia Galanga*, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 5 (3), 186–189.
- Chitwood K., Etzkorn J. and Cohen G., 2013, Topical and Intralesional Treatment of Nonmelanoma Skin Cancer: Efficacy and Cost Comparisons, *American Society for Dermatologic Surgery*, 39, 1306–1316.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 1995.
- Dewi M., 2017, Sebaran Kanker di Indonesia, Riset Kesehatan Dasar 2007, *Pusat Penelitian Sumber Daya dan Pelayanan Kesehatan Kemenkes RI*, 11 (29), 1–8.
- Djajanegara I. and Wahyudi P., 2009, Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7 (1), 7–11.
- Fauziya S. and Krishnamurthy R., 2013, Papaya (*Carica papaya*): Source Material for Anticancer, *CIBTech Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2 (1), 25–34.
- Harahap Y., Syafhan N.F. and Karsono B., 2007, Uji Sitotoksitas Sediaan Jadi Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) Terhadap Sel MCF-7 Secara In Vitro, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6 (2), 55–59.
- Hasima N., In L., Aun L., Nurul M., Nazif A., Thirthagiri E., Ibrahim H. and Awang K., 2010, 1'S-1'-Acetoxyeugenol Acetate : A New Chemotherapeutic Natural Compound Against MCF-7 Human Breast Cancer Cells, *Phytomedicine*, 17 (12), 935–939. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2010.03.011>.
- Kaushik D., Yadav J., Kaushik P., Sacher D. and Rani R., 2011, Current Pharmacological and Phytochemical Studies of the Plant *Alpinia galanga*, *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 9 (10), 1061–1065.
- Lee C.C. and Houghton P., 2005, Cytotoxicity of Plants from Malaysia and Thailand Used Traditionally to Treat Cancer, *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 237–243.
- National Cancer Institute, 2018, Understanding Cancer series, NIH Public Access, Terdapat di: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast> [Diakses pada 29 Desember 2018].
- Nguyen T.T., Parat M., Hodson M.P., Pan J., Shaw P.N. and Hewavitharana A.K., 2016, Chemical Characterization and in Vitro Cytotoxicity on Squamous Cell Carcinoma Cells of *Carica Papaya* Leaf Extracts, *Toxins*, 8 (7), 1–11.
- Nisa F.Z., Astuti M., Haryana S.M. and Murdiati A., 2017, Potensi Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Sebagai Antioksidan dalam Upaya Menghambat Kanker Payudara, *Universitas Gajah Mada*, 7–10.
- Otsuki N., Dang N.H., Kumagai E., Kondo A., Iwata S. and Morimoto C., 2010, Aqueous Extract of *Carica papaya* Leaves exhibits Anti-Tumor Activity and Immunomodulatory Effects, *Journal of Ethnopharmacology*, 127, 760–767.
- Purwaningsih E., Widayanti E. and Suciati Y., 2014, Cytotoxicity Assay of *Typhonium flagelliforme* Lodd Against Breast and Cervical Cancer Cells, *Universa Medicina*, 33 (2), 75–82.
- Sari H.D.P., 2017, Aktivitas Antiproliferatif Ekstrak Terstandar Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Berdasarkan Senyawa 1'-Asetoksi Kavikol Asetat pada Sel Kanker Payudara MCF-7, *Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta*

- Seran C.Y., 2012, Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Sel Kanker Serviks (Hela Cell Line), *Fakultas Farmasi Universtas Surabaya*
- Srisadono A., 2008, Skrining Awal Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Sebagai Antikanker Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BLT), *Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro*
- Suhendi A., Wikantyasning E.R., Setyadi G., Sri A. and Da M., 2017, Acetoxy Chavicol Acetate (ACA) Concentration and Cytotoxic Activity of *Alpinia galanga* Extract on HeLa , MCF7 and T47D Cancer Cell Lines, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 8 (2), 81–84.
- Sukardiman, Ekasari W. and Hapsari P.P., 2006, Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *Media Kedokteran Hewan*, 22 (2), 104–111.
- Swantara I.M.D. and Rita W.S., 2015, Aktivitas Antikanker Ekstrak Spons *Hyrtios erecta*, *Indonesian Journal of Cancer*, 9 (4), 141–145.
- Tristantini D., Ismawati A., Pradana B.T. and Jonathan J.G., 2016, Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L), *Program Studi Teknik Kimia, FTI, UPN "Veteran" Yogyakarta*, 1–7.